



Cidade Universitária, 04 de fevereiro de 2021

Empresa Solicitante:
Instituto Humanus
Rua Ávaro Fragoso, 735
V. Independência - São Paulo - SP
CEP: 04223-000
José A. Jerónimo
11 98432 9647
jeronimo.institutohumanus@gmail.com

Referente: LAUDO VIRUCIDA Transparent Mask

Vimos por meio desta enviar a V.Sa. o laudo de testes de eficácia a vírus (virucida).

1. Produto: Transparent Mask

Características: Máscaras em PET ou PVC contendo filtros com aspersões diferentes em cada lado.

No lado externo: Carvão ativado.

No lado interno: Íons de prata

2. Vírus testado: Coronavírus cepa MHV-3, Gênero *Betacoronavirus*

Vírus	Linhagem Celular
Coronavírus MHV-03	célula: NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L] (ATCC® CCL-1™)

3. Metodologia:

- a) Os ensaios foram realizados em laboratório NB-2 (Biosafety Level 2) seguindo as Recomendações da ANVISA Art. 1 e Art. 3 da IN 04/13 e IN 12/16 e metodologias descritas nas normas (ISO 18184/ 2019-06-25: "Textiles — Determination of antiviral activity of textile products" e do Instituto Robert Koch – RKI) e obedecendo as Boas Práticas de Laboratório (BPL).

O meio de cultura para vírus e linhagem celular foi utilizado o Meio Essencial Mínimo de Dulbecco (DMEM) contendo 2% a 10% de soro fetal bovino.

Os testes foram realizados em quadruplicata biológica:

- b) A titulação do Coronavírus (Cepa MHV-3) foi realizada de acordo com método DICT₅₀ (Doses Infectantes de Cultivos Tecidos 50%). Diluições sequenciais do vírus na base 10 foram realizadas em quadruplicata, em microplacas 96 orifícios estéreis. A seguir foram adicionadas células L929 com uma concentração de 2×10^5 células/orifício. Após 48 hs verifica-se o efeito citopático (ECP) da infecção viral, em comparação com controle

Cidade Universitária, 04 de fevereiro de 2021

celular e controle viral. Os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench, 1938.

- c) Amostra teste “filtro com aspersões contendo carvão ativado e íons de prata” foi tratada conforme a metodologia e as etapas indicadas na ISO 18148/2019.
Resumindo: As amostras de filtros foram esterilizadas por autoclave, adicionados vírus e deixado agir por até 2 horas. Após foi adicionado 20 mL de meio em tubos de 50mL e agitado com o misturador Vortex para eliminar o vírus do tecido. A suspensão foi usada no teste virucida/antiviral.
- d) As microplacas de 96 orifícios com 100µL da suspensão dos **filtros** (diferentes tempos) + vírus foram inoculadas com 100µL no sistema celular (L929) e foram incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 horas.
- e) Após 48 horas de incubação as placas foram lidas através de Microscópio Ótico Invertido na busca do Efeito Citopático (ECP) característico do vírus (verifica-se a falta ou não do efeito citopático da infecção viral) e os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench, 1938.
- f) Por fim, os resultados são expressos em percentual inativação viral (Tabela 1) em comparação com o controle viral (título do vírus) não tratado.

Resumo:

- Negativo: controle celular (2x10⁵ células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostra teste.
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10¹ a 10¹²) e cultura de células em meio DMEM
- Teste positivo: presença de vírus, cada amostra teste e linhagem celular em meio DMEM.

Tabela 1 - Os resultados são expressos em percentual inativação viral em comparação com o controle viral não tratado

Log de Redução	Fator de Redução	Percentual de Inativação/Redução Atividade
1	10	90%
2	100	99%
3	1000	99,9%
4	10.000	99,99%
5	100.000	99,999%
6	1.000,000	99,9999%

<https://microchemlab.com/information/log-and-percent-reductions-microbiology-and-antimicrobial-testing>



Cidade Universitária, 04 de fevereiro de 2021

4. Resultados

Tabela 2 - Resultados dos ensaios com Coronavírus (Cepa MHV-3), diferentes tempos de contato na máscara com “filtros contendo carvão ativado e íons de prata”.

Produto	Tempos de contato	Resultado inativação em Percentual (tabela 1)
		Coronavírus (Cepa MHV-3)
“Transparent Mask” Filtros com aspersões contendo carvão ativado e íons de prata	1 minuto	99,9% de inativação
	5 minutos	99,9% de inativação
	10 minutos	99,9% de inativação
	30 minutos	99,9% de inativação
	2 horas	99,99% de inativação

5. Conclusões:

- Considerando que houve inibição de até 99,99% do vírus testado, pode-se concluir que **“Transparent Mask: Filtros com aspersões contendo carvão ativado e íons de prata”** foi eficaz para a inativação de partículas virais, e, portanto, recomendamos o uso como potencial agente para o combate ao grupo Coronavírus.

Prof^a Dr^a Clarice Weis Arns (ID Lattes: 8635038112182716)

Responsável pelo laudo

Prof^a Dr^a Clarice Weis Arns
Laboratório de Virologia
Depto. Genética, Evolução e Bioagentes
Instituto de Biologia - UNICAMP
13083-970 - Campinas - SP



Cidade Universitária, 04 de fevereiro de 2021

Bibliografia Consultada:

ANVISA - Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária
INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, DE 2 DE JULHO DE 2013
http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/int0004_02_07_2013.html

ANVISA- INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12, DE 11 DE OUTUBRO DE 2016 – ANVISA.
<https://alimentusconsultoria.com.br/instrucao-normativa-no-12-2016-anvisa/>
<https://alimentusconsultoria.com.br/instrucao-normativa-in-no-50-de-3-de-dezembro-de-2019-anvisa/>

ISO 18184/ 2019-06-25: “Textiles — Determination of antiviral activity of textile products”

BS EN 16777:2018: *Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative non-porous surface test without mechanical action for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants used in the medical area*

DIN EN 14476:2015. Chemical disinfectants and antiseptics. Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine. Test method and requirements [phase 2, step 1]. Brussels 2015, CEN-Comité Européen de Normalisation.

Britta Becker, Lars Henningsen, Dajana Paulmann, Birte Bischoff, Daniel Todt , Eike Steinmann, Joerg Steinmann, Florian H. H. Brill and Jochen Steinmann
Evaluation of the virucidal efficacy of disinfectant wipes with a test method simulating practical conditions
Antimicrobial Resistance and Infection Control (2019) 8:121
<https://doi.org/10.1186/s13756-019-0569-4>

G. Kampf D., Todt, S. Pfaender , E. Steinmann
Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents
Journal of Hospital Infection 104 (2020) 246e251
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022> 0195-6701

Rabenau HF, Schwebke I, Blumel J, Eggers M, Glebe D, Rapp I, Sauerbrei A, Steinmann E, Steinmann J, Willkommen H, Wutzler P.
Guideline of the German Association for the Control of Virus Diseases (DVV) e.V. and the **Robert Koch-Institute (RKI)** for testing chemical disinfectants for effectiveness against viruses in human medicine. Version of 1st December, 2014.
Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2015;58: 493–504

Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Am J Hyg. 1938; 27:493–497.